

# 窒素同化教材化のための基礎的研究

坂 西 喜 安\*

ダイズとダイコンについて、全窒素の植物体内における分布、成長に与える窒素肥料の影響、窒素同化に与える光合成の影響などを調べた。その結果、ダイズは同化窒素が豆に集中し、水耕法を用いれば、豆莢ができ始めるころ以後に窒素肥料の影響が顕著に現われること、ダイコンは土中の窒素量が多いほど大きく成長し、同化される窒素も多いこと、ビュレット反応を用いることで、タンパク質含有率の高い部分を知ることができること、などが明らかになった。

## 1. はじめに

緑色植物における窒素同化は、有機酸と無機窒素化合物によって、アミノ酸、タンパク質などの有機窒素化合物を合成することをいう。このため、窒素同化には光合成や根による無機窒素化合物の吸収などが密接にかかわっている。緑色植物において、窒素同化は光合成とともに重要な同化作用であるが、そのはたらきは光合成よりわかりにくい。それは主に次の理由によると思われる。

窒素同化には光合成、根による無機窒素化合物の吸収、気温などの多くの条件がかかわり、反応も複雑である。一般に、植物の貯蔵物質で多くを占めるのは光合成産物であり、窒素同化産物は少ない。光合成が行なわれる場はほとんど緑葉に限られ、その産物は細胞の構成物と異なるが、窒素同化はあらゆる細胞で行なわれ、細胞の原形質自身も有機窒素化合物である。

窒素同化については、指導上の難しさから、中学校での取扱いは軽いのが一般的である。しかし、学習指導要領の第2分野の内容(5)ア. 生物界における生産と消費の(イ)、(7)イ. 自然界のつくり合いと環境保全の(ア)、などとのかかわっており、教材化が望まれるところである。そこで、窒素同化教材化のための資料を得たいと考え、緑色植物について、全窒素の植物体内における分布、窒素同化に与える窒素肥料の影響、窒素同化に与える光合成の影響を中心に検討したのでその概略を報告する。

## 2. 材料及び方法

### (1) 材料

空気中の遊離窒素を固定できる根粒菌の着くダイズと根粒菌の着かないダイコンを選び、材料とした。どちらも作物として広く普及し、入手しやすく、栽培が比較的簡単である。また、品種を選べば、栽培期間が短かくて済み、ほぼ年中栽培できる。

ダイズは、白鳥系品種の早生枝豆用を、ダイコンは、全窒素の植物体内における分布については宮重系品種の耐病総太りを、窒素同化に与える窒素肥料の影響については時無系品種を用いた。

\* 理科長期研修員(北魚沼地区理科教育センター、湯之谷村立湯之谷中学校)

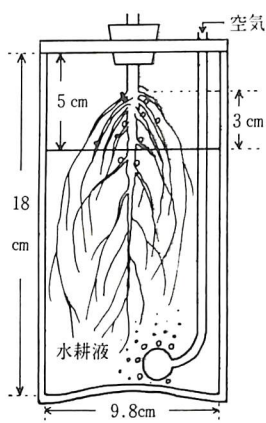


図1 水耕装置

## (2) 全窒素の植物体内における分布

ダイズ、ダイコンについて、各部に含まれる全窒素を同化された窒素とみなし、ケルダール法<sup>1), 2)</sup>によって定量した。比較のため、他の植物数例についても含まれる窒素をケルダール法によって定量した。

## (3) 窒素同化に与える窒素肥料の影響

### a. 豆の成熟に与える影響

豆莢がで始める時期まで同条件で栽培してきたダイズを、窒素の割合の違う4通りの条件で水耕栽培し、豆の成熟に与える窒素肥料の影響を調べた。

1985年7月1日に、59cm×19cm、深さ16cmのプランターに1プランター当たり3粒播種した。土は草地の埴土を用い、元肥として、窒素、リン酸、カリウムを各5%含む肥料を1プランター当たり100g施し、播種後屋外に置いた。豆莢のでき始めた8月7日に水耕を開始し、10日おきに試料全体と豆の

重量を測定した。最終測定は9月10日に行なった。水耕の容器は1升ビンを切断したものを用いた(図1)。水耕は、照度6000ルクス、25℃の室内で行ない、水耕液は週1回替えた。

水耕液は、水1ℓ当たり、次の塩類、鉄分を溶かした三塩水耕液<sup>3)</sup>を標準水耕液とした。

$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  0.236g       $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0.087g

$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.123g       $\text{FeC}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  0.017g

水耕条件は次の通りとした。

2N : 窒素だけ標準水耕液の2倍にしたもの。      N : 標準水耕液

N/2 : 窒素だけ標準水耕液の1/2にしたもの。      N欠 : 標準水耕液から窒素を欠いたもの。

N欠は、 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  のかわりに  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  を 0.147g/ℓ 溶かしたものである。N/2は、 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  を半分にし、 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  を 0.0735g/ℓ 溶かしたものである。

### b. ダイコンの成長に与える影響

窒素の割合の違う3通りの条件でダイコンを土耕栽培し、成長に与える窒素肥料の影響を調べた。

1985年11月6日に、直径9cm、深さ7.5cmの植木鉢に播種し、発芽後1鉢当たり試料が4本になるように間引いた。土は水洗いし、加熱殺菌した砂とパーミキュライトを半々に混ぜたものを用いた。前述の水耕液の2N, N/2, N欠を施肥条件とし、間引き後、液肥として週1回1鉢当たり50ml施し、照度6000ルクス、20℃の室内で栽培した。12月19日に全試料を採取し、乾重量、窒素重量を測定した。

## (4) 豆の成熟に与える光合成の影響

豆莢がで始めるころに、試料ごとに定めた位置の葉を切り落とし(葉柄は残す)、その葉腋にできる豆に与える影響を調べた。

1985年7月15日に、59cm×19cm、深さ16cmのプランターに1プランター当たり3粒播種した。播種数は10プランター計30粒である。土は杉林の褐色森林土を用い、元肥として、窒素、リン酸、カリウムを各5%含む肥料を1プランター当たり100g施し、播種後屋外に置いた。豆莢のでき始めた8月22日に、試料ごとに定めた位置の葉を切り落とした。豆が全体として完熟手前の状態となった9月26日に全試料

を採取し、乾重量、生重量を測定した。

#### (5) 根粒の発達と窒素肥料の影響

1985年8月15日に、ダイズを前項と同様プランターに播種し、屋外で栽培した。10日間隔で試料を2本ずつ掘り起こし、根粒の分布と数を調べた。

また、施肥条件を変えて、根粒のできる数と乾重量を調べた。

1985年9月24日に、前述の大きさのプランターに1プランター当たり3ヶ所2粒ずつ播種した。土は、施肥の影響が大きくなるように砂丘砂を用いた。前述の水耕液2N, N/2を週1回1プランター当たり400 ml施し、10月末日までは屋外で、11月以後は20℃の室内で栽培した。12月18日に全試料を採取し、根粒の数と乾重量を測定した。

#### (6) ビューレット反応によるタンパク質の検出

植物体各部の窒素含有率の差が、ビューレット反応の発色差となって現われるかどうかを調べた。5%硫酸銅水溶液と10%水酸化ナトリウム水溶液を用い、豆や根については、生のまますりつぶした汁に反応色が現われるかどうかを見た。葉については、H. Molishの方法<sup>4)</sup>により、緑葉をアルコール処理によって脱色した後、しばらく硫酸銅水溶液に浸漬しておいてから水洗いをし、水酸化ナトリウム水溶液で発色させた。緑色の葉柄や茎については、アルコール処理による脱色後、水を含ませてすりつぶした汁に反応色が現われるかどうかを見た。

### 3. 結果

#### (1) 全窒素の植物体内における分布

ダイズの含有窒素の定量には、1985年7月15日に播種し、9月26日に採取した試料を用いた。この試料の根には、根粒はほとんど着いていなかった。含有窒素を部分別にみると(表1)、豆が63.6 mg/g乾燥重で最も多く、次いで葉が45.2 mg/g乾燥重であった。他はいずれも20 mg/g乾燥重以下であった。

ダイコンの含有窒素の定量には、1985年8月28日に播種し、11月10日に採取した試料を用いた。ダイコンの含有窒素を部分別にみると(表2)、緑葉が50.1 mg/g乾燥重と最も多く、他は白葉が27.5 mg/g乾燥重、根が26.4 mg/g乾燥重であった。

植物数種について含有窒素を調べた結果(表3)、ダイズ、ダイコンも含めてみると、ダイズの豆で最

表1 ダイズの含有窒素  
mg N/g d. w.

部分	含有窒素
豆	63.6
葉	45.2
根	17.5
葉柄	16.5
茎	10.9
莢	8.1
全体	38.6

表2 ダイコンの含有窒素  
mg N/g d. w.

部 分	含有窒素
緑 葉	50.1
白 葉	27.5
根	26.4
全 体	32.3

表3 植物体の含有窒素  
mg N/gd. w.

部 分	含有窒素	部 分	含有窒素
ダイコン種子	55.3	ヨモギ葉	30.5
ダイズ根粒	54.8	クズ葉	30.3
クズ豆	54.3	ヤナギ根	24.4
ジャガイモ葉	52.3	クズ根	20.0



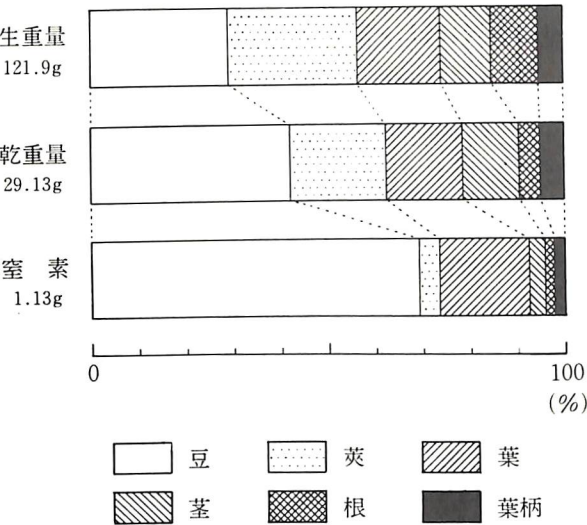


図2 ダイズの部分別重量の割合と窒素分布

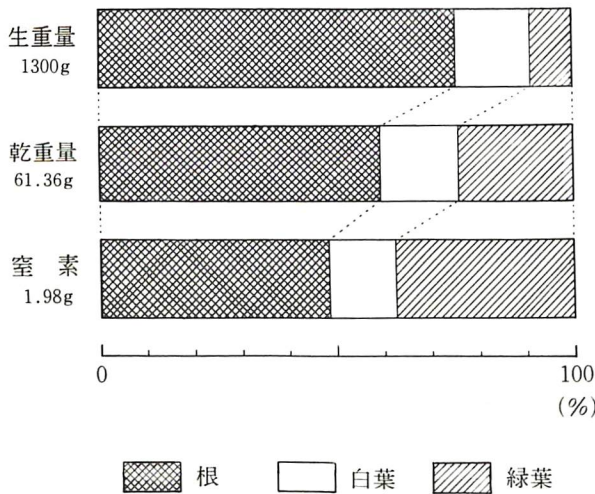


図3 ダイコンの部分別重量の割合と窒素分布

も多く、ダイコンの種子、ダイズの根粒、ジャガイモの葉などで50mg /g 乾燥重を超えている。クズ、ヨモギの葉では約30mg /g 乾燥重で、他の葉に比べやや低く、茎や根ではいずれも30mg /g 乾燥重に満たない。

ダイズでは、豆が生重量で29.1%，乾重量で42.0%を占めているのに対し、窒素重量は69.2%に達している（図2）。豆に次いで窒素重量の大きい部分は葉で、19.1%を占めている。豆と葉以外は全部合わせても、その含有窒素は、11.7%にすぎない。

ダイコンでは、根が生重量で75.4%を占めるが、乾重量では59.4%，窒素重量では48.6%である（図3）。逆に緑葉は、生重量で8.9%を占めているだけなのに対し、乾重量では24.1%，窒素重量では37.4%に達している。

(2) 窒素同化に与える窒素肥料の影響

a. 豆の成熟に与える影響

施肥条件の違いによるダイズの重量変化について測定した結果を表4に示す。

2N, N, N/2の試料では、8月7日から9月10日の間に生重量で40%以上の増加がみられ、その増加分の約50%は新しくできた豆で占められている。これに対してN欠の試料では、この間にほとんど生重量の変化はなく、豆も豆莢も全くできていない。

2N, N, N/2の試料間で、8月7日から9月10日までの成長を比べると、肥料中の窒素の割合が大きいほど生重量の増加が大きくなっている。

表4 施肥条件の違いによるダイズの重量変化

	2 N		N		N / 2		N 欠	
	植物全体	豆	植物全体	豆	植物全体	豆	植物全体	豆
8 / 7生重量 (g)	13.20	0	10.30	0	14.70	0	10.70	0
9 / 10生重量 (g)	19.11	2.96	14.78	2.35	20.69	2.80	10.74	0
9 / 10乾重量 (g)	4.87	1.33	3.52	0.73	4.87	0.77	2.89	0
8 / 7 ~ 9 / 10増加率 (%)	44.8	—	43.5	—	40.7	—	0.37	—
9 / 10の乾重量 ÷ 生重量 (%)	25.5	44.9	23.8	31.1	23.5	27.5	26.9	0

## b. ダイコンの成長に与える影響

施肥条件の違いによるダイコンの成長差について測定した結果を表5に示す。

2 Nの試料は、乾重量ではN/2の試料の約1.2倍なのに対し、含有窒素では3倍近くになっている。成長量は、2N, N/2, N欠の順に大きい。

## (3) 豆の成熟に与える光合成の影響

表6, 7は、測定結果の1例である。表に示した試料について、豆の位置を図4, 5に示す。

表7から、対照個体では、茎の上部の豆ほど重量が大きく、生重量に対する乾重量の割合も大きい傾向が認められる。しかし、5, 6, 8の位置の豆のように、上部にあっても重量の小さい例外もある。

表6は、茎の上部にできた豆について測定した結果である。試料1~3は、葉を欠いてもその葉腋に豆ができる点で共通している。その豆は、葉のある葉腋にできた豆より概ね小さい傾向が認められる。

## (4) 根粒の発達と窒素肥料の影響

成長にともなう根粒の発達については、どの成長段階の試料にも根粒はほとんど着いていなかった。

施肥条件と根粒の数、乾重量については、2 Nの試料は4本で、根粒数9粒、乾重量 $4.01 \times 10^{-2}$  g, N/2の試料は27粒、 $9.86 \times 10^{-2}$  gであり、2 Nの試料の方が根粒数が多く、乾重量も大きかった。

表5 施肥条件の違いによるダイコンの成長差(1試料当たりの重量)

	2 N	N/2	N 欠	市販の種子
乾重量(g)	$7.00 \times 10^{-2}$	$5.85 \times 10^{-2}$	$2.66 \times 10^{-2}$	$7.60 \times 10^{-3}$
窒素重量(g)	$3.16 \times 10^{-3}$	$1.10 \times 10^{-3}$	$4.55 \times 10^{-4}$	$4.20 \times 10^{-4}$

表6 ダイズの豆のできる位置と重量

試料 1		試料 2		試料 3	
位置 No.	乾重量(g)	位置 No.	乾重量(g)	位置 No.	乾重量(g)
1*	0.04	1	0.55	1	0.90
2*	1.07	2	1.18	2	0.68
3*	0.22	3*	0.57	3	0.78
4	1.85	4	0.87	4*	0.77
他豆全部	5.94	他豆全部	2.44	5*	0.69
豆全部	9.12	豆全部	5.61	他豆全体	2.33
植物全体	23.59	植物全体	13.66	豆全体	6.15
豆/植(%)	38.7	豆/植(%)	41.1	植物全体	13.45
				豆/植(%)	45.7

\*は葉のない位置の豆を示す

表7 対照用ダイズ

位置 No.	乾重量(g)	生/乾(%)
1	1.27	35.8
2	2.00	38.6
3	1.40	39.7
4	1.12	39.3
5	0.65	39.9
6	0.63	34.6
7	2.12	34.5
8	0.20	30.8
9	0.86	34.4
10	0.12	20.0
11	0.07	19.4
12	0.37	27.4
13	0.53	32.3
14	0.28	24.1
15	0.25	26.3
16	0.11	30.6
17	0.26	23.0
豆全体	12.24	34.6
植物全体	29.13	23.9
豆/植(%)	42.0	—

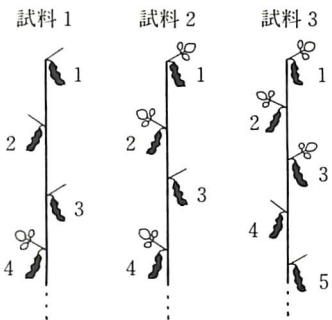


図4 ダイズ試料1~3の豆の位置

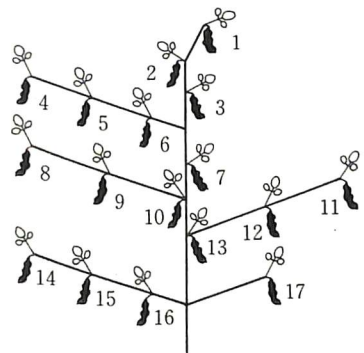


図5 対照用ダイズの豆の位置



表8 植物のビューレット反応

顕 著	中 間	わずか、または無し
<ul style="list-style-type: none"> <li>・ダイズ豆、根粒、葉</li> <li>・ダイコン種子、緑葉</li> <li>・クズ豆</li> <li>・ジャガイモ葉</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・クズ葉</li> <li>・ヨモギ葉</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ダイズ根、葉柄、莢</li> <li>・ダイコン根、白葉</li> <li>・クズ根</li> <li>・ヤナギ根</li> </ul>

#### (5) ビューレット反応によるタンパク質の検出

表1, 2, 3に示した植物について、ビューレット反応によるタンパク質の検出を行ない、結果を3段階に区分した(表8)。

## 4. 考察

### (1) 全窒素の植物体内における分布

ダイズは、体の部分によって単位重量当たりの窒素量(窒素含有率)が著しく異なっており、豆、葉、根粒で高く、特に豆には図2に示したように体内の全窒素の69.2%が集中している。この定量に使用した試料にはほとんど根粒はなかったが、根粒の発達した試料では図2に示した値より根の部分の占める窒素の割合が大きいことも考えられる。しかし、根粒は、ダイズの植物体の中では小さな部分でしかないことから、豆に含まれる窒素が全体に対して大きな割合を占めることには変わりがないと考えられる。葉は光合成を行なう場であり、その窒素含有率が高いということは、根から吸収された窒素をとり込んで、窒素同化もまた盛んに行なっている場であることと一致する。根粒の窒素含有率が高いということは、根粒が窒素を固定している場であることを示している。窒素含有率の高い根粒、葉、豆は、窒素の固定、同化や同化物の貯蔵にそれぞれの役割をもっている。

ダイコンでは、体内の全窒素の48.6%の窒素が根に含まれるという結果になったが、根は生重量では全体の75.4%とさらに大きな割合を占め、窒素含有率はむしろ最も少ない部分である。表2、図3は種子ができていない状態での結果であるが、ダイコンの種子は窒素含有率が高いので、種子をつけた状態のダイコンではまた違った結果がでるものと思われる。種子を除外して考えると、最も窒素含有率の高い部分は葉である。葉はダイズと同様に、主として同化物の生産の場としての役割をもっているが、ダイズの豆のような窒素含有率の高い部分はない。

### (2) 窒素同化に与える窒素肥料の影響

ダイズの水耕では、豆莢形成の始まる頃から肥料中の窒素が、豆と豆莢の形成に著しい影響を与える。豆莢形成以後の生重量の増加分の約50%が豆であったこと、水耕液中に窒素を欠くと豆莢も豆も全くできなかったこと、豆には含有窒素が多いことなどから、豆莢形成以後のダイズにおいては、植物体内に吸収された窒素はその大部分が豆と豆莢の成長に使われるものと考えられる。根粒のはたらきについては、水耕という環境にあっては空気との接触が少なく、窒素を固定するはたらきが土中より弱い可能性がある。そうであれば、水耕では窒素を得るはたらきは、根の吸収力に依存することになり、肥料中の窒素が直接影響を与えることも考えられる。

ダイコンでは(表5)、乾重量が、N欠の試料では種子の3.5倍、N/2では7.7倍、2Nでは9.2倍に増加している。含有窒素はN欠の試料では種子とほとんど変わらないが、N/2は2.6倍、2Nは7.2倍になっている。種子の含有窒素との差は、発芽後根から吸収された窒素が体内に固定されたものと考え

られる。施肥窒素量が多いほど大きく成長し、同化された窒素も多いことがわかる。しかし、乾重量と含有窒素の増加割合は、施肥窒素量が同じでもそれぞれ異なり、どちらの増加も施肥窒素量に比例するわけではない。

### (3) 豆の成熟に与える光合成の影響

豆について、生重量に対する乾重量の割合を成熟の程度（成熟度）とみなせば、ダイズでは茎の上部にできる豆ほど重量が大きく、成熟度も高い傾向がみられた。光合成に有利な葉は上部の葉であること、葉では光合成によって物質生産が盛んに行なわれていること、などを考え合わせると、豆の成長に必要な光合成産物を得やすいのは上部の豆であるから、上部の豆ほど早く有機窒素化合物を含む同化物質が貯蔵されるのではないかと考えられる。

植物体が一部の葉を欠くことによって受ける影響は、光合成能力の減退だけではないが、ここでは他の影響は小さく、無視できるものとみなした。葉のない葉腋にも豆はできるが、葉のある葉腋にできる豆より小さい傾向がある。このことから、葉の光合成産物は、その葉の葉腋にできる豆の形成に最も多く使われること、一部の葉が欠損してもその葉腋には、他の葉の光合成産物が流用されて豆ができるという適応性があることが考えられる。

### (4) 根粒の発達と窒素肥料の影響

成長にともなう根粒の発達を調べるために用いた試料と同時に栽培したダイズを、「豆の成熟に与える光合成の影響」を調べるためにも用いたが、このときもほとんど根粒はできなかった。しかし、他の土壌や砂では肥料中の窒素の多少にかかわらず、根粒はできていることから、根粒の発達には、土壌の違いによる影響があると考えられる。

測定した個体の細かい根は切れており、必ずしも根粒数を正確に表わしているとはいえないが、試料数も少ないが、測定結果からは、肥料中の窒素が少なく根粒が発達する傾向が認められる。このことから、ダイズには、土中の窒素が少なければ、不足分の窒素は、根粒の発達によって空気中の窒素を利用することで補える適応性もあると考えることができる。

根粒の発達には、土壌の違いと土中の窒素の多少の両方がかかわっているように思われる。

### (5) ビューレット反応によるタンパク質の検出

植物体中の窒素には非タンパク態窒素もあるので、タンパク質に反応するビューレット反応にはすべての窒素が反応するわけではないが、窒素含有率が高いほどビューレット反応も顕著である傾向が認められる。このことは、他より窒素の多い部分はタンパク態窒素も多いことを示している。同化物質の生産の場である葉と貯蔵の場である種子で窒素含有率が高く、根や茎では低いということは、多くの植物に共通することのようであるが、植物体のタンパク質含有率は動物体に比べれば低く、ビューレット反応も総じて鈍い。したがって反応の程度を明確に段階区分することは難しく、やや主観的な判断にならざるを得ない。

### (6) ダイズ、ダイコンの窒素同化における教材性

#### a. ダイズ

豆に大量の窒素が集中することから、豆莢のでき始めるころから窒素を欠いて水耕していくと、豆莢

も豆も全くできないことを対照とともに示せば、肥料中の窒素が豆の形成に重要であることを現象として見せることができる。

窒素固定の場合(根粒)、窒素同化の盛んな場合(葉)、同化物質を貯蔵する場合(豆)というように、ダイズにはそれぞれの役割をはたす場(部分)が別々にあり、いずれも窒素含有率は高い。これらの部分の役割を生徒実験で検証することは極めて困難と思われるが、ビューレット反応によって、ダイズの植物体の中でこれらの部分のタンパク質含有率が他より高いことは生徒でも確かめられる。ビューレット反応を確認し、これらの部分のタンパク質含有率が高いことの意味を考えることはできる。

根に根粒菌が着くため、窒素肥料が窒素同化に与える影響をみるにはダイズの土耕は適さない。

葉を欠けば、その葉腋にできる豆は小さい傾向はあるが、例外もあり、顕著とはいえない。また、葉の上部から下部にかけて、豆の熟す時期がずれる(上が早い)ことも考慮する必要がある。茎の上方4、5ヶ所で比較する方がよいようである。

#### b. ダイコン

同化に必要な窒素のすべてを根からの吸収に頼っており、窒素の欠乏が成長に与える影響は、生重量でも、乾重量でも顕著である。

緑葉の窒素含有率が他より高く、光合成と窒素同化の関連を考えるにはよいが、ダイズの豆のように局部的に大量の窒素(粗タンパク質)が集中するわけではないので、同化窒素の移動、蓄積を考えるには適した素材といえるかどうか疑問である。

## 5. おわりに

ダイズ、ダイコンの窒素同化に関する特性を中心に検討した。その結果、ダイズ、ダイコンの全窒素の体内における分布状況、窒素肥料や光合成と窒素同化の関連などについて明らかにすることができた。また、ビューレット反応は、植物体のタンパク質にも利用でき、窒素同化の学習に有効と思われる。ダイズやダイコンを窒素同化の教材として活用するには、ダイズの窒素獲得における根粒菌への依存度、土耕と水耕が根や根粒に与える影響の違い、品種間の差などについても明らかにする必要があり、今後の課題は多い。

最後に、本研究にあたり、研究の方向について指導、助言をいただいた新潟県立新潟北高等学校の田村栄光先生、佐藤義雄先生に厚くお礼申し上げる。

## 参 考 文 献

- 1) 松村忠昭:有機窒素化合物の元素分析,新潟県立教育センター研究報告第64号(1983) p. 9~12
- 2) 東京大学農芸化学教室:実験農芸化学上巻,朝倉書店(1963) p.54~55, p. 116~117
- 3) 石田寿老,佐藤重平:生物の実験法,掌華房(1968) p. 100~103
- 4) 田沢康夫:アミノ酸,蛋白質実験法 生物学実験法講座第6巻(上),中山書店(1969) p. 5~10